

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学 号: 20520061151974

UDC _____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

纳米氧化锌及其复合体的
防霉和霉菌毒素吸附研究

Study on prevention of mildew and adsorption of mycotoxin
with nano-ZnO and its complexes

林 璋

指导教师姓名: 杨 乐 夫 副教授

廖 代 伟 教授

专 业 名 称: 物 理 化 学

论文提交日期: 2009 年 7 月

论文答辩时间: 2009 年 7 月

学位授予日期: 2009 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2009 年 7 月

厦门大学学位论文原创性声明

兹提交的学位论文，是本人在导师指导下独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考的其他个人或集体的研究成果，均在文中以明确方式标明。本人依法享有和承担由此论文产生的权利和责任。

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人完全了解厦门大学有关保留、使用学位论文的规定。厦门大学有权保留并向国家主管部门或其指定机构送交论文的纸质版和电子版，有权将学位论文用于非赢利目的的少量复制并允许论文进入学校图书馆被查阅，有权将学位论文的内容编入有关数据库进行检索，有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

本学位论文属于

- 1、保密（ ），在 年解密后适用本授权书。
- 2、不保密（ ）

（请在以上相应括号内打“√”）

作者签名：

日期： 年 月 日

导师签名：

日期： 年 月 日

目 录

纳米氧化锌及其复合体的防霉和霉菌毒素吸附研究

中文摘要	I
英文摘要	II
第一章 绪论	1
1.1 前言	1
1.2 危害饲料的常见霉菌	2
1.3 常见霉菌毒素	4
1.4 抗菌剂简介	11
1.5 纳米抗菌材料	13
1.6 霉菌毒素吸附剂	14
1.7 本文工作设想	17
参考文献	19
第二章 实验部分	24
2.1 试剂和仪器	24
2.2 防霉抗菌剂的制备	25
2.3 表征方法及实验仪器	26
参考文献	29
第三章 纳米氧化锌的制备及其抗菌性能研究	30
3.1 引言	30
3.2 结果与讨论	34
3.2.1 不同温度焙烧的纳米ZnO的XRD表征	34
3.2.2 不同温度焙烧的纳米ZnO的BET表征	36
3.2.3 不同温度焙烧的纳米ZnO的抗菌性能表征	37
3.3 本章小结	43
参考文献	44
第四章 纳米氧化锌复合体研究	47
4.1 引言	47
4.1.1 沸石	47
4.1.2 膨润土	48
4.2 结果与讨论	50
4.2.1 沸石—纳米氧化锌复合体	50
4.2.2 膨润土的改性	55
4.2.3 霉菌毒素吸附表征	57
4.3 本章小结	60
参考文献	61

第五章 论文总结及展望.....	64
5.1 本论文主要结论	64
5.2 论文主要展望	64
攻读硕士学位期间发表的论文	66
致谢	67

厦门大学博士论文摘要库

Contents

Study on prevention of mildew and adsorption of mycotoxin with nano-ZnO and its complexes

Abstract in Chinese.....	I
Abstract in English	II
Chapter 1 Introduction.....	1
1.1 Brief introduction.....	1
1.2 Common mold harming feed	2
1.3 Common mycotoxins	4
1.4 Instruction of antibacterial material.....	11
1.5 Nano antibacterial materials.....	13
1.6 Adsorbent of mycotoxin.....	14
1.7 Objective.....	17
References.....	19
Chapter 2 Experiment	24
2.1 Reagents.....	24
2.2 Preparation.....	25
2.3 Activity test apparatus and characterization instrument	26
References.....	29
Chapter 3 Preparation of nano-ZnO and study on performance of antibiosis	30
3.1 Brief introduction.....	30
3.2 Conclusions and discussion	34
3.2.1 XRD test of nano-ZnO.....	34
3.2.2 BET test of nano-ZnO.....	36
3.2.3 Test in antibacterial behavior of nano-ZnO	37
3.3 Brief summary.....	43
References.....	44
Chapter 4 Study on Complexes of nano-ZnO	47
4.1 Brief introduction.....	47
4.1.1 Zeolite.....	47
4.1.2 Bentonite.....	48
4.2 Conclusion and discussion	50
4.2.1 Complex of nano-ZnO and zeolite.....	50
4.2.2 Modified bentonite.....	55
4.2.3 Test in capability of mycotoxins	57

4.3 Brief summary	60
References	61
Chapter 5 Conclusion and prospect	64
5.1 Main conclusion	64
5.2 Prospect	64
Publication list	66
Acknowledgements	67

厦门大学博硕士论文摘要库

摘 要

饲料霉变并由此造成的霉菌毒素污染问题是一个全球性问题,对畜牧生产和人类健康构成了巨大危害,尽管人们采取了各种防霉措施,但饲料作物在田间、收割、贮存、加工等诸多环节受到不同程度的霉菌毒素污染。目前,防止饲料霉变的最有效途径是在饲料中添加防霉剂和毒素吸附剂,高效、低毒、成本低、具有广谱抗菌和霉菌毒素吸附能力的抗菌剂和吸附剂是今后的主要发展趋势。

本文采用均匀沉淀法,以 NaOH 和 Na_2CO_3 为联合沉淀剂制备了不同尺寸的纳米氧化锌,考察了焙烧温度对纳米氧化锌尺寸大小的影响。实验结果表明,随着焙烧温度的提高,生成的纳米氧化锌有烧结团聚现象,尺寸就变大,其中以 300 °C 焙烧所得的纳米氧化锌有最小尺寸 8.7 nm 左右。抗菌实验结果表明,纳米氧化锌尺寸越小,其抗菌性能就越好,其中以 300 °C 焙烧所得的纳米氧化锌抗菌性能最好。

本文以饲料添加剂沸石作为纳米氧化锌抗菌剂的载体,以共沉淀法成功制得沸石—纳米氧化锌复合体。XRD 表征结果显示复合体的 XRD 谱图中在 30~40° 位置出现了氧化锌的特征峰,表明纳米氧化锌成功地负载在沸石以及膨润土上。抗菌实验结果表明纳米氧化锌负载在沸石上并未影响到其抗菌性能,其中以沸石与纳米氧化锌质量比为 3:1 时具有最好的抗菌性能。由于沸石耐酸耐高温,改性结果不理想,本文采用了天然膨润土经过一系列改性后作为纳米氧化锌的载体,采用 ELISA 法进行霉菌毒素吸附实验,实验结果表明,制得的膨润土—纳米氧化锌复合体的霉菌毒素吸附能力比沸石和未改性的膨润土要好,而且对于多种霉菌毒素都具有较好的吸附效果。

关键词: 纳米氧化锌; 膨润土; 抗菌; 霉菌; 毒素; 饲料; 吸附

Abstract

Moldy feed and the resulting mycotoxin contamination problem is a global problem, it has caused great Against to livestock production and human health. Though people have been doing many things for mold, the fodder crops are still polluted by mycotoxin in different levels when they are in the field or being reped and stored. At present, the most effective way to prevent the feed to be moldy is adding preservatives and Toxin adsorbent to the feed, Research in the antimicrobial agent and the adsorbent with high efficiency, low toxicity, low cost, with broad-spectrum anti-bacterial and mycotoxin adsorption capacity is the next major trends.

In this paper, homogeneous precipitation method has prepared nano-ZnO as NaOH and Na_2CO_3 used to be precipitants, and we studied the calcination temperature impact of the size of nano-ZnO. Consulting the experimental results, with the increase in calcination temperature, ZnO has generated the phenomenon of sintering reunion, and the size would be larger. ZnO calcined by 300 °C has the minimum size about 8.7 nm. Antibacterial Experimental results show that the smaller the size of nano-ZnO, the better its anti-bacterial properties, as 300 °C calcination of ZnO has the best anti-bacterial properties.

Zeolite and bentonite as kinds of feed additive are used to be ZnO carrier of antimicrobial agents. With co-precipitation method we obtain zeolite-nano-zinc oxide complex. XRD characterization showed that the XRD spectra of complexes in a position 30-40° of the characteristic peaks which have been proved to be zinc oxide. It shows that Nano-ZnO has been successfully loaded on the zeolite and bentonite. The experimental results show that anti-bacterial nano-ZnO loading on the zeolite as well as affect their antimicrobial properties, with zeolite and ZnO when the mass ratio of 3:1 has the best anti-bacterial properties. Zeolite as it's high temperature and acid-resistant, it is not satisfactory to be modified, so bentonite is used to be new carrier of ZnO when it had been modified, results of mycotoxin adsorption experiment by ELISA method show that bentonite-nano-zinc oxide complex

mycotoxin has better adsorption capacity than the unmodified zeolite and bentonite, also has a wider range of mycotoxins adsorption.

Keywords: ZnO; bentonite; antibacterial; mold; mycotoxin; feed; adsorption.

厦门大学博士论文摘要库

第一章 绪论

1.1 前言

饲料的生物性污染中以霉菌素的危害最大,霉菌的主要危害是其产生的外毒素和内毒素导致动物体机能产生不良反应。据联合国粮农组织估计,全世界每年大约有5%~7%的粮食、饲料等农产品遭受霉菌的侵蚀^[1-2]。我国饲料工业受到霉菌污染的比例比较大,将近有20%的饲料被霉菌污染而导致损失^[3]。

饲料霉变造成的损失主要有两方面:一是营养方面,它降低了饲料的营养价值,并产生很多异味影响了饲料的适口性。饲料原料收获后,往往被外界霉菌污染,它们所产生的酶能将饲料营养成分分解,使饲料使用价值降低,在通常情况下,谷粒粒籽整粒贮存,成分几乎没有变化,但粉碎后,霉菌则容易侵入。霉菌在饲料中生长繁殖需要饲料中的营养物质,同时在微生物酶、饲料酶和其他因素作用下,饲料组成成分发生分解,从而导致饲料营养价值的严重降低。霉变后饲料中粗蛋白质消化率降低,甚至使饲料的营养价值为零或者负值。霉菌在饲料中大量繁殖,首先会使饲料发生感观性质恶化,常常发散出一种特殊的“霉臭”气味,会产生粘稠污秽感,使口感变差,还会出现异常颜色。霉变后的饲料会出现发热结块现象,在使用过程中造成了极大的不方便。二是病理方面,它产生了对畜禽有害有毒的代谢产物,导致畜禽的急、慢性中毒^[4]。由于受到霉菌污染的饲料由于营养价值降低了,而长期喂养这种饲料时,会产生不同性质的毒素导致畜禽的中毒,畜禽会出现食欲减退或者停食,精神萎顿,生长抑制,产量降低,衰弱、贫血及各种严重并发症,甚至造成死亡。同时,其毒素又可通过畜禽产品直接危害人体健康。

霉菌产生的主要条件有以下几个方面:

1 温度 一般常见的霉菌大多数属于中温性微生物,在22~32℃生长快,而一般危害饲料的霉菌孢子在7℃时即可发芽生长,甚至在低至0℃,高至49℃,都有不同的霉菌生长。

2 水分和湿度 最适合霉菌生长繁殖的空气相对湿度是80%~100%,饲料水分是13%~14%,低于这个水分,霉菌虽然会停止生长,但霉菌孢子还存在并没有消亡,湿度一旦适宜,霉菌便会迅速增殖,致使饲料霉变。

3 氧气 多数多气性霉菌在生长过程中离不开氧气,在含水12%的正常饲料

中，如果饲料存贮仓空气流通，有代谢水生成，含水量升高，霉菌会迅速生长繁殖。

4 能量物质 营养的供给是霉菌代谢和繁殖的物质基础，粉碎的饲料、破裂的谷料（虫吃鼠咬）等给霉菌提供了入侵的有效途径，而饲料中的营养物质给霉菌提供了足够的能源，增加了霉变的机会。

饲料防霉的措施有很多，可采用辐射、冷冻、干燥、真空控制、在贮藏室通入惰性气体或添加防霉剂来实现，但因有的措施成本过高和操作不便而未在实际生产中广泛应用，目前在生产过程中应用最广泛的还是化学防霉添加剂。防霉剂难以对所有致霉微生物都有抑制作用，并且它所产生的毒性残留问题，促使人们开发研制出防霉性能好、成本低、毒性小、安全可靠的新型防霉剂，高效、低毒、价格低，甚至具有促生长作用的天然防霉剂是今后防霉剂发展的趋势^[5]。

1.2 危害饲料的常见霉菌

霉菌种类繁多，在自然界分布广泛，可分为产毒霉菌和不产毒霉菌2大类，不产毒霉菌主要应用于生产淀粉酶、蛋白酶、和磷酸二酯酶等。目前已报道的产毒霉菌主要有曲霉菌、青霉菌和镰刀菌属^[6-18]。

1.2.1 曲霉菌



图1 显微镜下曲霉菌分生孢子图

曲霉菌中最常见的为黄曲霉，半知菌类，黄曲霉群的一种腐生真菌，多见于发霉的粮食、粮制品及其它霉腐的有机物上。菌落生长较快，最适生长温度为25～30℃，结构疏松，表面灰绿色，背面无色或略呈褐色。曲霉菌占空气中真菌的12%左右，主要以枯死的植物、动物的排泄物及动物尸体为营养源，是寄生于土壤

中的腐生菌，其形态特征是在分生孢子的头部有一个顶囊，菌体有许多复杂的分枝菌丝构成。营养菌丝具有分隔，气生菌丝的一部分形成长而粗糙的分生孢子梗，顶端产生烧瓶形或近球形顶囊，表面产生许多小梗(一般为双层)，小梗上端生成串状的表面粗糙的球形分生孢子。分生孢子梗、顶囊、小梗和分生孢子合成孢子头，可用于产生淀粉酶、蛋白酶和磷酸二酯酶等，也是酿造工业中的常见菌种。另有米曲霉、酱油曲霉是常用发酵菌种。目前已知的曲霉菌至少有170种以上，以*Aspergillus fumigatus*、*Aspergillus terreus*、*Aspergillus niger*、*Aspergillus flavus* 为其中的代表。各个菌种形成的菌落，颜色不一样，可用于菌种的鉴别。黄曲霉的有些菌系能产生黄曲霉毒素，不仅能引起禽畜中毒致死，亦有致癌作用。在发霉的饲料中，黄曲霉所占的含量比例高达90%以上，而其所产生的黄曲霉毒素也是饲料中含量最高，毒性最强的毒素。

1.2.2 青霉菌



图 2 显微镜下青霉菌分生孢子图

青霉属真菌的一种，半知菌类，串珠霉目的一属。在有性生殖阶段，菌丝为多细胞分枝。无性繁殖时，菌丝发生直立的多细胞分生孢子梗，梗的顶端不膨大，但具有可继续再分的指状分枝，每枝顶端有 2~3 个瓶状细胞，其上各生一串灰绿色分生孢子。分生孢子脱落后，在适宜的条件下萌发产生新个体。有性繁殖绝无仅有，如有发现，多归于子囊菌纲曲霉科。常见于腐烂的水果、蔬菜、肉食及衣履上，多呈灰绿色，亦能引起柑橘的青霉病。青霉菌属多细胞，营养菌丝体无

色、淡色或具鲜明颜色。菌丝有横隔，分生孢子梗亦有横隔，光滑或粗糙。基部无足细胞，顶端不形成庞大的顶囊，其分生孢子梗经过多次分枝，产生几轮对称或不对称的小梗，形如扫帚，称为帚状体。分生孢子球形、椭圆形或短柱形，光滑或粗糙，大部分生长时呈蓝绿色。有少数菌种产生闭囊壳，内形成子囊和子囊孢子，亦有少数菌种产生菌核。

1.2.3 镰刀菌



图3 显微镜下镰刀菌分生孢子图

镰刀菌是一类世界性分布的真菌，它不仅可以在土壤中越冬越夏，还可侵染多种植物(粮食作物、经济作物、药用植物及观赏植物)，引起植物的根腐、茎腐、茎基腐、花腐和穗腐等多种病害，寄主植物达100余种，侵染寄主植物维管束系统，破坏植物的输导组织维管束，并在生长发育代谢过程中产生毒素危害作物，造成作物萎蔫死亡，影响产量和品质，是生产上防治最艰难的重要病害之一。镰刀菌的有性时期分别属于肉座菌科(Hypocreaceae)的赤霉属(Gillerella)、丛赤壳属(Nectria)、丽赤壳属(Calonectria)和小赤壳属(Micronectriella)等。除Gillerellazea极为常见和易培养外，大部分种类在培养基上较少形成子囊壳，而且有些种类至今未发现有性时期，因此在镰刀菌鉴定上主要根据无性时期的形态特征——小型分生孢子、大型分生孢子、厚垣孢子。

1.3 常见霉菌毒素

霉菌毒素就是霉菌在生长繁殖过程中产生的有毒代谢产物。一般而言，霉菌毒素主要是由4种霉菌属所产生：曲霉菌属、青霉菌属、麦角菌属和梭霉菌属(镰刀菌属)。曲霉菌属主要分泌黄曲霉素、赭曲霉素等；青霉菌属主要分泌桔霉素等；麦角菌属主要分泌麦角毒素；梭菌属主要分泌呕吐毒素、玉米赤霉烯酮、

T-2毒素等。迄今为止,已经有超过300种霉菌毒素被分离和鉴定出来。养殖业中最常见及危害最严重的毒素有:黄曲霉毒素、赭曲霉毒素、呕吐毒素、玉米赤霉烯酮、烟曲霉毒素、T-2毒素^[19-34]。霉菌毒素对畜禽具有很强的毒副作用,主要表现在降低采食量,导致生长受阻,生产性能下降,繁殖性能降低,免疫抑制,免疫机能下降,对疾病的敏感性增强,组织器官受损等。

1.3.1 黄曲霉素

黄曲霉素为分子真菌毒素,是一类具有相似结构的衍生物,它们都有1个糖酸呋喃和1个氧杂萘邻酮(香豆素)结构。几乎无色,分子量为312~346,熔点在200~300℃,难溶于水、己烷、石油醚和乙醚,易溶于氯仿、甲醇、丙酮、苯和乙腈等多种有机溶剂,中性和酸性溶液中很稳定,在强碱(pH=9~10)溶液中可迅速被分解,5%的次氯酸钠溶液可瞬时破坏毒素。

黄曲霉素主要存在于被黄曲霉素污染过的粮食、油及其制品中。例如黄曲霉污染的花生、花生油、玉米、大米、棉籽中最为常见,在干果类食品如胡桃、杏仁、榛子、干辣椒中,动物性食品如肝、咸鱼中以及在奶和奶制品中也曾发现过黄曲霉素。

黄曲霉素是目前发现的化学致癌物中最强的物质之一。它主要引起肝癌,还可以诱发骨癌、肾癌、直肠癌、乳腺癌、卵巢癌等。黄曲霉毒素可降低某些胰腺酶的活性,抑制酶及其他激素合成,导致营养成分吸收和体内代谢的障碍,抑制畜禽生长发育;能引起某些组织细胞的变性和坏死,能在动物体内抑制的RNA聚合酶,继而阻止蛋白质合成,引起白蛋白和球蛋白的下降,从而抑制了抗体的产生;还能使丁淋巴细胞吞噬活性下降等,从而引起畜禽免疫器官发育受阻。黄曲霉毒素中毒的临床症状:急性中毒一般于食入黄曲霉毒素污染的饲料5~15天左右发病,主要症状为抑郁、厌食、身躯衰弱、粘膜苍白、粪便干燥或拉稀,有时粪便带血,偶有中枢神经系统症状,呆立墙角,以头抵墙,多于2天内死亡。慢性中毒表现为沉郁,食欲不振,粘膜常见黄疸^[35]。

毒素进入动物体后,可生成结构相似的6种代谢物。它的命名是根据紫外光下薄层层析板上所显示的荧光的颜色而确定的。B族毒素显蓝紫色荧光,G族毒素显黄绿色荧光。饲料、食品或培养基中的黄曲霉毒素有B1、B2、G1、G2、M1、

M2等6种。B1和G1、M1的二呋喃环末端有双键，其毒性较强且有致癌性，其中B1毒性及致癌性最强。

我国规定大米、食用油中黄曲霉毒素允许量标准为 $10\text{ }\mu\text{g/kg}$ ，其他粮食、豆类及发酵食品为 $5\text{ }\mu\text{g/kg}$ ，婴儿代乳食品不得检出，而世界卫生组织推荐食品、饲料中黄曲霉毒素最高允许量标准为 $15\text{ }\mu\text{g/kg}$ 。 $30\sim 50\text{ }\mu\text{g/kg}$ 为低毒， $50\sim 100\text{ }\mu\text{g/kg}$ 为中毒， $100\sim 1000\text{ }\mu\text{g/kg}$ 为高毒， $1000\text{ }\mu\text{g/kg}$ 以上为极毒。

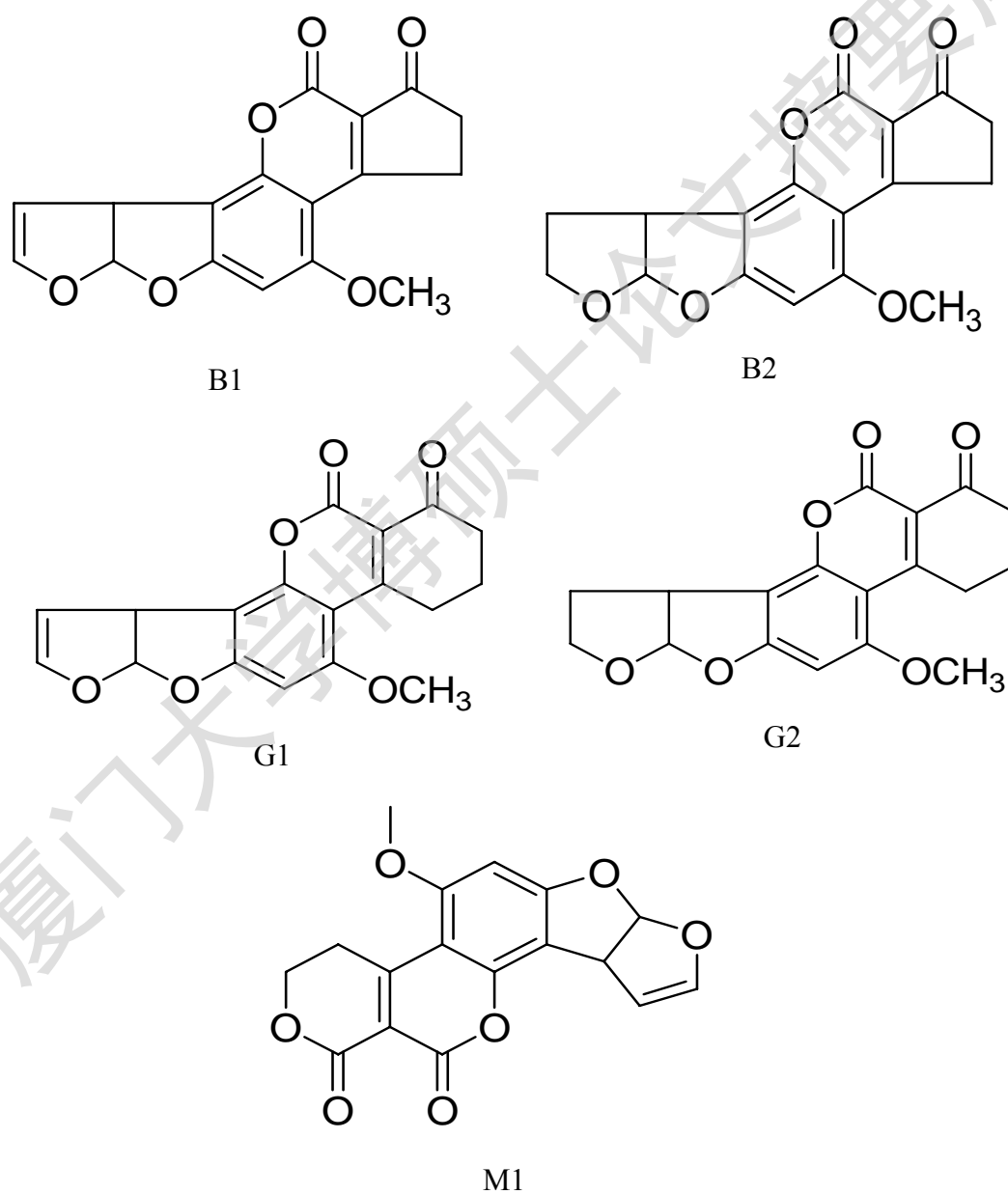


图4 几种主要黄曲霉毒素的结构式

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库